

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-201480

(43)Date of publication of application : 27.07.2001

(51)Int.Cl.

G01N 27/327  
C12N 11/14  
C12Q 1/00  
C12Q 1/26  
C12Q 1/44  
C12Q 1/60  
G01N 27/447  
G01N 33/483  
G01N 33/92

(21)Application number : 2000-013026

(71)Applicant : MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD

(22)Date of filing : 21.01.2000

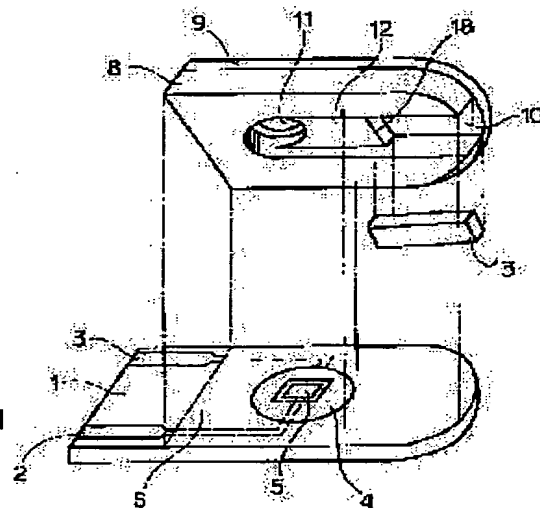
(72)Inventor : YAMAMOTO TOMOHIRO  
WATANABE KIICHI  
IKEDA MAKOTO  
NANKAI SHIRO

## (54) BIOSENSOR

### (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a biosensor which can easily dissolve a reaction reagent system, even with a small amount of sample solution, quickly measure and shows less variations in response values.

**SOLUTION:** This biosensor has an insulating substrate, an electrode system set on the substrate, a cover member for forming a sample solution feed path to the electrode system between the substrate and the member, the reaction reagent system and a carrier for holding a reagent, including an electronic mediator and/or an oxidation-reduction enzyme. The carrier is arranged between a part opposite to the electrode system of the cover member in the sample solution feed path and a leading opening part of the sample solution feed path. In the sample solution feed path, the distance between the electrode system and a part corresponding to a ceiling of the cover member is made shorter than the distance between the substrate of a position other than the electrode system and the part corresponding to the ceiling of the cover member.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-201480

(P2001-201480A)

(43) 公開日 平成13年7月27日 (2001.7.27)

(51) Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

テマコード\* (参考)

G 0 1 N 27/327

C 1 2 N 11/14

2 G 0 4 5

C 1 2 N 11/14

C 1 2 Q 1/00

C 4 B 0 3 3

C 1 2 Q 1/00

1/26

4 B 0 6 3

1/26

1/44

1/44

1/60

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 8 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-13026 (P2000-13026)

(22) 出願日 平成12年1月21日 (2000.1.21)

(71) 出願人 000005821

松下電器産業株式会社

大阪府門真市大字門真1006番地

(72) 発明者 山本 智浩

大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器  
産業株式会社内

(72) 発明者 渡邊 基一

大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器  
産業株式会社内

(74) 代理人 100072431

弁理士 石井 和郎

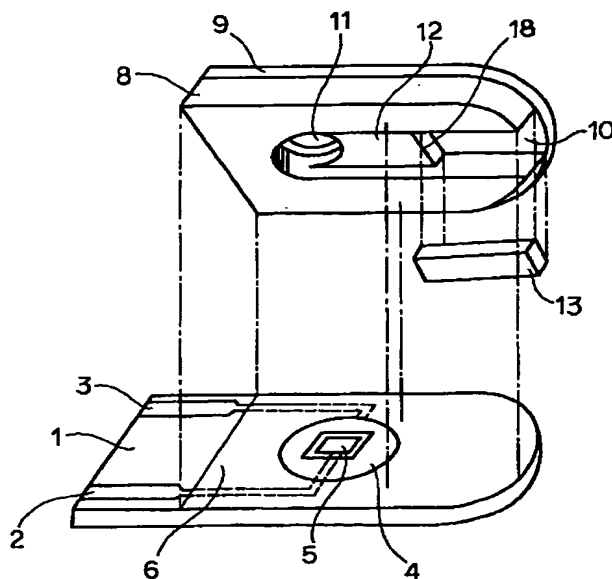
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 バイオセンサ

(57) 【要約】

【課題】 少量の試料液でも、反応試薬系が容易に溶解し、迅速な測定が可能であり、応答値のばらつきが少ないバイオセンサを提供する。

【解決手段】 絶縁性基板、前記基板上に設けられた電極系、前記基板との間で前記電極系への試料液供給路を形成するカバー部材、反応試薬系、および電子メディエータおよび/または酸化還元酵素を含む試薬を担持する担体を具備し、前記担体が前記試料液供給路内の前記カバー部材における前記電極系と対向する部分と、前記試料液供給路の先端の開口部との間に配置され、前記試料液供給路において、前記電極系と前記カバー部材の天井に相当する部分との距離が、前記電極系以外の部位での前記基板と前記カバー部材の天井に相当する部分との距離より短いことを特徴とするバイオセンサ。



# 【特許請求の範囲】

【請求項1】 絶縁性基板、前記基板上に設けられた少なくとも測定極と対極とを有する電極系、前記基板に組み合わされて基板との間に前記電極系に試料液を供給するための試料液供給路を形成するカバー部材、少なくとも電子メディエータと酸化還元試薬とを含む反応試薬系、および反応試薬系のうち少なくとも電子メディエータまたは酸化還元酵素を含む試薬を担持する担体を具備するバイオセンサであって、前記担体が、前記試料液供給路を形成するカバー部材において、前記電極系と対向する部分と、前記試料液供給路の先端の開口部との間に配置され、前記基板と前記カバー部材を組み合わせて形成される前記試料液供給路において、前記電極系と前記カバー部材の天井に相当する部分との距離が、前記電極系以外の部位での前記基板と前記カバー部材の天井に相当する部分との距離より短いことを特徴とするバイオセンサ。

【請求項2】 前記担体が多孔質体であることを特徴とする請求項1記載のバイオセンサ。

【請求項3】 前記担体が接着剤によって固定されていることを特徴とする請求項1または2記載のバイオセンサ。

【請求項4】 前記酸化還元酵素がコレステロールオキシダーゼであることを特徴とする請求項1～3のいずれかに記載のバイオセンサ。

【請求項5】 前記反応試薬系がコレステロールエステル加水分解能を有する酵素を含むことを特徴とする請求項4記載のバイオセンサ。

【請求項6】 前記コレステロールエステル加水分解能を有する酵素がコレステロールエステラーゼであることを特徴とする請求項5記載のバイオセンサ。

【請求項7】 前記反応試薬系が界面活性剤を含むことを特徴とする請求項5または6記載のバイオセンサ。

【請求項8】 前記接着剤が界面活性剤であることを特徴とする請求項4～7のいずれかに記載のバイオセンサ。

## 【発明の詳細な説明】

### 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、試料中の測定対象物について、迅速で高精度な定量を簡便に実施することができるバイオセンサに関する。

### 【0002】

【従来の技術】従来、試料中の特定成分について、試料液の希釈や攪拌などを行うことなく簡易に定量する方式として、次のようなバイオセンサが提案されている（特開平2-062952号公報）。このバイオセンサは、絶縁性の基板上にスクリーン印刷等の方法で測定極、対極および参照極からなる電極系を形成し、この電極系上に、親水性高分子と酸化還元酵素および電子メディエータを含む酵素反応層を形成したものである。この酵素反

応層には必要に応じて緩衝剤が加えられる。このようにして作製されたバイオセンサの酵素反応層上に、基質を含む試料液を滴下すると、酵素反応層が溶解して酵素と基質が反応し、これに伴い電子メディエータが還元される。酵素反応終了後、この還元された電子メディエータを電気化学的に酸化し、このとき得られる酸化電流値から試料液中の基質濃度を求めることができる。

【0003】このようなバイオセンサは、測定対象物質を基質とする酵素を選択することによって、様々な物質に対する測定が原理的には可能である。例えば、酸化還元酵素にグルコースオキシダーゼを用いれば、血液中のグルコース濃度を測定するバイオセンサを構成することができる。このセンサは、グルコースセンサとして、広く実用化されている。また、コレステロールオキシダーゼを用いれば、血清中のコレステロールを測定するバイオセンサを構成することができる。通常、診断指針として用いられる血清コレステロール値は、コレステロールとコレステロールエステルの濃度を合計したものである。コレステロールエステルは、コレステロールオキシダーゼによる酸化反応の基質になることができない。そのため、診断指針としての血清コレステロール値を測定するには、コレステロールエステルをコレステロールに変化させる過程が必要である。この過程を触媒する酵素として、コレステロールエステラーゼが知られている。このコレステロールエステラーゼとコレステロールオキシダーゼを酵素反応層中に含むバイオセンサを用いることによって、血清中の総コレステロール濃度を測定することができる。

【0004】上記のような構成のバイオセンサにおける酵素反応層は、少なくとも酸化還元酵素を含む試薬の水溶液を前記電極系上に滴下し、乾燥して、バイオセンサに担持させたものである。このようにして試薬を担持させた場合、試薬の量が多くなると試料液を反応層に滴下したとき反応層が迅速に溶解せず、その結果、測定に長時間を要するという問題があった。特に、コレステロールセンサの場合、酵素反応層中にコレステロールオキシダーゼとコレステロールエステラーゼの計2種類の酵素を含有させなければならないことから、試薬の担持量が非常に多くなり、試料液滴下後の酵素反応層の溶解に非常に長時間を要し、迅速な測定を行えなかった。そこで、次のようなバイオセンサが提案されている（特願平10-139977号）。

【0005】このバイオセンサは、絶縁性の基板、前記基板上に設けられた少なくとも測定極と対極とを有する電極系、前記基板に組み合わされて基板との間に前記電極系に試料液を供給する試料液供給路を形成するカバー部材、および少なくとも酸化還元酵素を含む試薬を担持する繊維からなる担体を具備し、前記担体が前記試料液供給路内に配置されていることを特徴とする。また、絶縁性の基板、前記基板上に設けられた少なくとも測定極と

対極を有する電極系、および少なくとも酸化還元酵素を含む試薬を担持する繊維からなる担体を具備し、前記担体が接着剤によって前記電極系の近傍に固定されていることを特徴とする。しかし、このバイオセンサでは、前記担体が前記試料液供給路内に配置されているために、試料液供給路の高さは、少なくとも前記担体の厚み以上必要である。実際には、前記担体と前記電極が対向する構成であり、前記担体表面と前記電極の接触を防ぐために、一定の空隙が必要であるので、試料液供給路の高さは更に大きなものになる。従って、前記担体を試料液供給路内に配置する場合、試料液を試料液供給路内に満たすためには、少なくとも前記担体の外形から算出される体積に前記担体の空隙率を掛けた値と、前記担体表面と前記電極系の空隙を合わせた量の試料液が必要である。一方、試薬の溶解性を向上させるためには、前記担体の空隙率は高ければ高い程好ましい。

#### 【0006】

【発明が解決しようとする課題】以上のような特徴から、上記のバイオセンサでは、測定に必要な試料液の量が、担体を必要としないバイオセンサと比較して多くなる傾向があった。また、担体がスクリーン印刷により形成された電極系の直上を覆う形態のため、試料液の浸入により膨張した担体の表面が印刷電極表面に接触し、応答電流値を低下させる減少が散見された。さらに、試料液が完全に印刷電極を覆っているかどうかの判断が困難であり、測定値に誤差を生じせしめる原因ともなっていた。したがって、本発明は、上記問題点に鑑み、試薬の溶解性を高めて、速な測定を可能にし、かつ試料液の低減が可能なバイオセンサにおいて、必要な試料溶液の量をさらに低減させることができ、かつ安定した応答性を示す構造を提供することを目的とする。

#### 【0007】

【課題を解決するための手段】本発明のバイオセンサは、絶縁性基板、前記基板上に設けられた少なくとも測定極と対極とを有する電極系、前記基板に組み合わされて基板との間に前記電極系に試料液を供給するための試料液供給路を形成するカバー部材、少なくとも電子メディエータと酸化還元試薬とを含む反応試薬系、および反応試薬系のうち少なくとも電子メディエータまたは酸化還元酵素を含む試薬を担持する、例えば繊維からなる担体を具備するバイオセンサであって、前記担体が、前記試料液供給路を形成するカバー部材において、前記電極系と対向する部分と、前記試料液供給路の先端の開口部との間に配置され、前記基板と前記カバー部材を組み合わせて形成される前記試料液供給路において、前記電極系と前記カバー部材の天井に相当する部分との距離が、前記電極系以外の部位での前記基板と前記カバー部材の天井に相当する部分との距離より短いことを特徴とする。前記担体は、繊維などの多孔質体であることが好ましい。前記担体が接着剤によって固定されているのが好

ましい。前記酸化還元酵素がコレステロールオキシダーゼであるのが好ましい。前記反応試薬系がコレステロールエステル加水分解能を有する酵素を含むのが好ましい。前記コレステロールエステル加水分解能を有する酵素がコレステロールエステラーゼであるのが好ましい。前記反応試薬系が界面活性剤を含むのが好ましい。前記接着剤が界面活性剤であるのが好ましい。

#### 【0008】

【発明の実施の形態】上記のように、本発明によるバイオセンサは、絶縁性基板、前記基板上に設けられた少なくとも測定極と対極を有する電極系、少なくとも電子メディエータと酸化還元酵素を含む反応試薬系、前記基板に組み合わされて基板との間に前記電極系に試料液を供給する試料液供給路を形成するカバー部材、および反応試薬系のうち、少なくとも電子メディエータおよび酸化還元酵素のいずれかを含む試薬を担持する繊維等の多孔質体により形成された担体からなり、前記担体が前記試料液供給路内の、前記カバー部材における前記電極系と対向する位置と、前記試料液供給路の先端の開口部との間に位置する部分に配置されており、前記カバー部材の試料液供給路内において、前記担体が担持される位置が、周囲より陥没した構造を有する。

【0009】この構造により、試料液供給路内の、前記カバー部材における前記電極系と対向する位置には前記担体は存在しない。したがって、この部分での電極系表面と、カバー裏面により形成される試料液供給路の天井部分の距離は、電気化学的な反応性が損なわれない限り、短くすることが可能である。また、担体を担持する部分のみが周囲より陥没しているため、反応に必要な充分な試薬を担持し、かつ試料液添加時に充分な溶解性を付与するに必要な体積を有する担体を装着することが可能である。これにより、添加された試料液は、担体中に担持された試薬を溶解した後に、容易に電極系表面に到達する。

【0010】担体には、それ自体がバイオセンサ内で生じる酵素反応および電気化学的反応に不活性であるものが好ましく、セルロース繊維、ガラス繊維または高分子化合物からなる繊維をフリース状またはフェルト状に積層したものを用いるのが好適である。用いる接着剤には、センサ作製時の環境において、担体にしみこまないような高粘性のもの、例えば木工用接着剤（例えば、セメダイン（株）製のセメダインc）を用いるのが好適である。担体に担持される酸化還元酵素には、種々のものを用いることができる。例えば、グルコースオキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ等が挙げられる。血清コレステロール値を測定する場合は、コレステロールオキシダーゼとコレステロールエステル加水分解能を有する酵素を用いる。コレステロールエステル加水分解能を有する酵素には、コレステロールエステラーゼ、リボプロテインリパーゼ等が挙げられ

る。特に、コレステロールエステラーゼは、適当な界面活性剤を用いることによって、迅速にコレステロールエステルをコレステロールに変化させることができるので都合がよい。

【0011】コレステロールエステル加水分解能を有する酵素を使用する場合、この酵素の活性を向上させる効果を有する界面活性剤を担体全体、あるいは一部の担体断片に担持される試薬中に含ませると、酵素反応に要する時間を短縮することができて好ましい。例えば、コレステロールエステラーゼの活性を向上させる界面活性剤には、 $n$ -オクチル- $\beta$ -D-チオグルコシド、ポリエチレングリコールモノドデシルエーテル、コール酸ナトリウム、ドデシル- $\beta$ -マルトシド、シュークロースモノラウレート、デオキシコール酸ナトリウム、タウロデオキシコール酸ナトリウム、N, N-ビス(3-D-グルコンアミドプロピル)コールアミド、N, N-ビス(3-D-グルコンアミドプロピル)デオキシコールアミド、ポリオキシエチレン-p-tert-オクチルフェニルエーテルなどを任意に用いることができる。また、上記の界面活性剤の中で、常温で高粘性の液体で酵素反応を阻害しないものを担体を固定する接着剤に用いると、酵素の活性を向上させるという効果の他に、試料液がセンサ内へ導入されるのを容易にするという利点が得られる。このような界面活性剤には、ポリエチレングリコールモノドデシルエーテル、ポリオキシエチレン-p-tert-オクチルフェニルエーテル等が挙げられる。

【0012】バイオセンサの電極系を白金などの電気化学的に安定な金属を用いて形成すると、得られる酸化電流値が誤差を含むことがない。しかし、このような金属は高価であるため、使い捨て型のセンサでは、銀ペーストなどを用いて銀電極を形成したのち、これをカーボンペーストで被覆して電極系を形成している。ところが、試料液中に界面活性剤が含有されると、界面活性剤的作用により試料液がカーボン粒子間に浸潤する。その結果、カーボン電極の活性が低下することがある。また、試料液が銀電極に接触する状態になる。このため、この状態で測定極に電圧を印加すると、銀電極が酸化反応を起こして電流を生じ、測定電流値に正の誤差を与える場合が生じる。このような現象を抑制するために、電極系表面を親水性高分子で被覆する方法がある。この親水性高分子は、試料液が導入されても粘調な層となって試料液が電極に接触するのを抑制する。このような親水性高分子には、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチン、ポリアクリル酸およびその塩、デンブロンおよびその誘導体、無水マレイン酸およびその塩、ポリアクリルアミド、メタクリレート樹脂、ポリ2-ヒドロキシエチルメラクリレートなどが挙げられる。

【0013】この、親水性高分子層を覆うように、レシ

チン等の両親媒性物質を有機溶媒に溶解した溶液を滴下乾燥し、両親媒性物質層を設けることが好ましい。このような両親媒性物質層は、酵素反応、電極反応には不要であるが、これを設けることにより、試料溶液の導入を円滑に行うことができる。このような目的のために使用できる両親媒性物質としては、レシチンをはじめとするリン脂質等、両親媒性脂質が好ましい。また、バイオセンサの電極系を銀およびカーボンで形成する場合は、担体に担持される試薬中に、電子メディエータを含有させる。このような電子メディエータには、フェリシアン化カリウム、p-ベンゾキノン、フェナジンメトサルフェート、フェロセン誘導体(酸化型)など水溶性で、酵素-電極間の電子移動を媒介しうる化合物を任意に使用できる。

【0014】上記した担体に担持される試薬のうちの1種類または数種類の試薬を担持した担体断片を複数個作成し、これらの試薬を含まず、これらの試薬以外の試薬を含む試薬断片と交互に組み合わせて担体を形成することもできる。酸化電流の測定方法としては、測定極と対極のみの二電極系と、参照極を加えた三電極方式があり、三電極方式の方がより正確な測定が可能である。

【0015】

【実施例】以下に具体的な実施例を挙げて、本発明を詳細に説明する。図1は、本発明の一実施例におけるバイオセンサの分解斜視図を示している。ポリエチレンテレフタレートからなる絶縁性基板1上に、スクリーン印刷により銀ペーストを印刷してリード2、3および電極系の下地を形成してある。そして、基板1上に、さらに、樹脂バインダーを含む導電性カーボンペーストを印刷することにより測定極4と対極5を含む電極系を形成し、また、絶縁性ペーストを印刷することにより絶縁層6をそれぞれ形成している。測定極4は、リード2に、また対極5はリード3にそれぞれ接続されている。絶縁層6は、測定極4および対極5の露出部分の面積を一定とし、かつリードを部分的に覆っている。このようにして電極系を形成した絶縁性基板1と、空気孔11を備えたカバー部材(単に「カバー」ともいう。)9、スペーサー8および試薬を担持した担体13を、図1中、一点鎖線で示すような位置関係をもって接着しバイオセンサを作製する。

【0016】このような構成のバイオセンサでは、基板1とカバー9との間において、スペーサー8のスリット12の部分に試料液供給路を構成する空間部が形成され、この空間部内に前記担体が配置される。カバー9の試料液供給路の天井を形成する部分は、空気孔11に接する側と、先端の試料供給口を形成する開口部10に接する側の途中に設けられた段差(陥没部分)18により、深さが不連続に異なった構造を有する。試料供給口を形成する開口部10に接する側の方が深くなっている。カバー9はスペーサー8をはさんで電極系を形成し

た絶縁性基板1に接着されるが、その際、試料液供給路の天井を形成する部分において、空気孔11に接する側の天井部分に対向する位置に電極系が形成されている。

【0017】試料液供給路口となる開口部10に、試料液を接触させるだけの簡易操作で、試料液は容易にセンサ内部へ導入される。本実施例では、開口部10から空気孔11の外周までの長さは4.5mm、スリット12の幅は2.0mm、スリットの深さは試料液供給路を形成する開口部10側が0.3mm、空気孔11側が0.1mmである。開口部10からカバー9の試料液供給路の天井を形成する部分の段差18までの長さは2mmである。この場合、担体のサイズは、縦2.0mm、横はスリットの幅と同じ2.0mm、乾燥時の厚みが約0.2mmであることが好ましい。このサイズの担体を用いると、担体は、開口部10から段差18までの陥没部分を埋めることになる。しかし、縦の長さは、開口部10からカバー9の試料液供給路の天井を形成する部分の段差18までの長さよりも長くても短くても良い。担体あるいは担体断片の寸法を規定するために前記の各寸法の明記が不可欠であるので記載したが、各寸法は必ずしもこれに限定されるものではない。

【0018】図2は、スペーサー8とカバー9を重ね合わせたカバー部材の斜視図であり、図1とは上下逆に配置してある。このカバー部材と基板を組み合わせて、試料液供給路を構成する空間部が形成される。図3は、本発明の一実施例におけるバイオセンサの縦断面図である。図1と同様に、絶縁性基板1上に電極系を形成し、この電極系上に、親水性高分子層7が形成され、更にこれを覆うようにレシチン層17が形成されている。そして、試料液供給路を構成する空間部に試薬を担持した担体断片からなる担体13が嵌合されて配置されている。つぎに、図4は、本発明の他の実施例に係るバイオセンサの縦断面図である。図3と同様に試薬を担持した担体断片からなる担体13が試料液供給路を構成する空間部に嵌合されて配置されている。担体は、カバー部材と基板の両方に接触している。この形態では、図3で用いられている接着剤14は必ずしも必要ではない。また、図4では、担体の一部が試料液供給口外まで及んでいるが、担体の一端が試料液供給口に合致していてもよいし、試料液供給口まで届いていなくてもよい。本発明においては、担体の試料液供給口側の一端と試料液供給口との位置関係についての制約はない。

【0019】《実施例1》まず、図1の基板1上の電極系上に、親水性高分子であるカルボキシメチルセルロースのナトリウム塩（以下、「CMC」という。）の0.5wt%水溶液を滴下し、50℃の温風乾燥器中で10分間乾燥させ、CMC層7を形成した。続いて、CMC層7を覆うようにして、レシチンの0.5%トルエン溶液を3μl滴下、乾燥させ、レシチン層17を形成した。次に、カバー9の試料液供給路の天井を形成する部

分のうち、空気孔11に接する側から段差18までの陥没部分にTriton X-100を5wt%溶解したエタノール溶液を1μl滴下、風乾させて接着剤14を形成した。また、縦2.0mm、横2.0mm、厚さ0.2mmのフェルト状のガラスフィルタを用意し、図1に示すようにカバー部材のスリット12にはめ込んで固定し、担体13とした。この担体13に、電子メディエータであるフェリシアン化カリウム、コレステロールオキシダーゼ（以下、「ChOD」という。）、コレステロールエステラーゼ（以下、「ChE」という。）、およびChEの反応を活性化させる作用を有する界面活性剤であるポリオキシエチレン-p-tert-オクチルフェニルエーテル（以下、「Triton X-100」という。）を水に溶解させた混合溶液を滴下2μl滴下し、該ガラスフィルタに均一に浸透させた後、50℃の温風乾燥器中で15分間乾燥させた。

【0020】この担体13には、1平方ミリメートルあたり0.33μmolのフェリシアン化カリウム、0.22unitsのChOD、2.2unitsのChE、0.3mgのTriton X-100が担持されている。そして、前記のカバー部材と基板1を図1中、一点鎖線で示すような位置関係をもって接着し、バイオセンサを作製した。こうして作製したバイオセンサに、試料液1.5μlを試料液供給路の開口部10より供給した。試料液には、市販の標準血清を生理食塩水で希釈して、含有されるコレステロールの濃度を種々変化させたものを用いた。そして、3分後に対極を基準にして測定極にアノード方向へ+0.5Vのパルス電圧を印加し、更に5秒後に測定極と対極との間に流れる電流値を測定した。その結果、血清中の総コレステロール濃度に依存した応答値を示した。また、電極系部分に気泡が残留するような状態は殆ど見られなかった。

【0021】《実施例2》実施例1と同様の基板1上の電極系上に、親水性高分子であるCMCの0.5wt%水溶液を滴下し、50℃の温風乾燥器中で10分間乾燥させ、CMC層7を形成した。続いて、CMC層7を覆うようにして、電子メディエータであるフェリシアン化カリウムを0.3M溶解した水溶液を2.5μl滴下、50℃の温風乾燥器中で10分間乾燥させ、フェリシアン化カリウム層を形成した。更にこのフェリシアン化カリウム層を覆うように、レシチンの0.5%トルエン溶液を3μl滴下、乾燥させ、レシチン層17を形成した。次に、実施例1と同様に、カバー9の試料液供給路の天井を形成する部分のうち、空気孔11に接する側から段差18までの陥没部分にTriton X-100を5wt%溶解したエタノール溶液を1μl滴下、風乾させて接着剤14を形成した。また、実施例1と同様にフェルト状のガラスフィルタをカバー部材のスリット12にはめ込んで固定し、担体13とした。この担体13に、ChOD、ChE、およびChEの反応を活性化さ

せる作用を有する界面活性剤であるTritonX-100を水に溶解させた混合溶液を滴下2 $\mu$ l滴下し、該ガラスフィルタに均一に浸透させた後、50℃の温風乾燥器中で15分間乾燥させた。この担体13には、1平方ミリメートルあたり0.22unitsのChOD、2.2unitsのChE、0.3mgのTritonX-100が担持されている。そして、実施例1同様、前記のカバー部材と基板1を図1中、一点鎖線で示すような位置関係をもって接着し、バイオセンサを作製した。

【0022】こうして作製したバイオセンサに、試料液1.5 $\mu$ lを試料液供給路の開口部10より供給した。試料液には、市販の標準血清を生理食塩水で希釈して、含有されるコレステロールの濃度を種々変化させたものを用いた。そして、3分後に対極を基準にして測定極にアノード方向へ+0.5Vのパルス電圧を印加し、更に5秒後に測定極と対極との間に流れる電流値を測定した。その結果、実施例1の場合と同様に、血清中の総コレステロール濃度に依存した応答値を示した。また、電極系部分に気泡が残留するような状態は殆ど見られなかった。

【0023】本発明によれば、実施例2の様に、電子メディエータを電極系に担持し、ChOD、ChE、界面活性剤を担体13に担持する構成も可能であり、また、担体13に電子メディエータのみを担持し、電極系にChOD、ChE、界面活性剤を担持することも可能である。この場合、界面活性剤をChOD、ChEを溶解した水溶液に混合し、これを電極系表面に滴下乾燥するのが、酵素反応のためには望ましいが、電極系が、カーボンペーストで形成された電極系の下層に、導電性向上のために銀ペーストの層を設けてあるような場合、界面活性剤の影響でカーボンペースト層を試料液が透過し、下層の銀ペースト層と反応し、基質依存性の応答が得られなくなる場合がある。したがって、このような電極系では、ChOD、ChEの混合層を形成したのち、界面活性剤をエタノール等の有機溶剤に溶解させた溶液を滴下、界面活性剤層を形成するのが望ましい。また、担体に、電子メディエータとChE、界面活性剤を担持し、

電極系にChODを担持することも可能である。バイオセンサのうち、特に、コレステロールセンサの場合には、ChEと界面活性剤はなるべく近い位置に、可能であるなら両者を混合して担持する形態が望ましい。

【0024】

【発明の効果】上記のように、本発明によれば、少量の試料液でも、反応試薬系が容易に溶解し、迅速な測定が可能であり、応答値のばらつきが少ないバイオセンサが得られる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の一実施例におけるバイオセンサにおける、電極系を有する絶縁性の基板と、基板カバーとスペーサーを重ね合わせたカバー部材と、担体の位置関係を示す斜視図である。

【図2】同バイオセンサのカバーとスペーサーを重ね合わせたカバー部材で、図1とは、上下逆に配置した斜視図である。

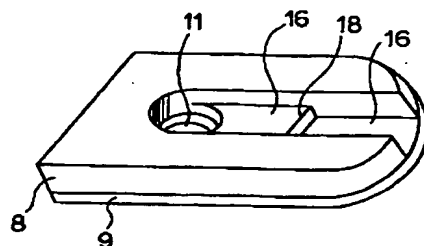
【図3】本発明の一実施例のバイオセンサにおける要部の縦断面図である。

【図4】本発明の別の実施例のバイオセンサにおける要部の縦断面図である。

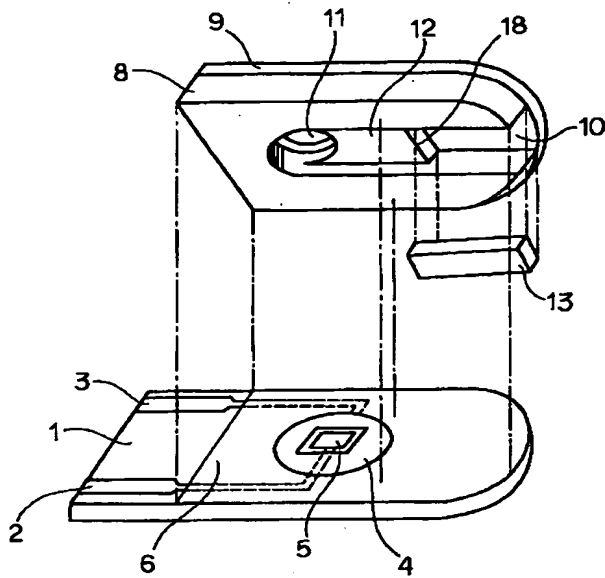
【符号の説明】

- |     |                  |
|-----|------------------|
| 1   | 絶縁性の基板           |
| 2、3 | リード              |
| 4   | 測定極              |
| 5   | 対極               |
| 6   | 絶縁層              |
| 7   | CMC層             |
| 8   | スペーサー            |
| 9   | カバー              |
| 10  | 試料液供給路の開口部       |
| 11  | 空気孔              |
| 12  | スリット             |
| 13  | 担体               |
| 14  | 接着剤              |
| 16  | 試料液供給路を構成するカバーの面 |
| 17  | レシチン層            |
| 18  | 段差               |

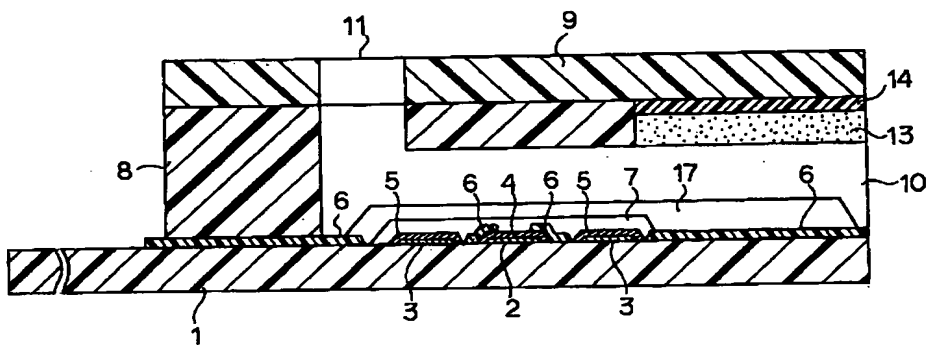
【図2】



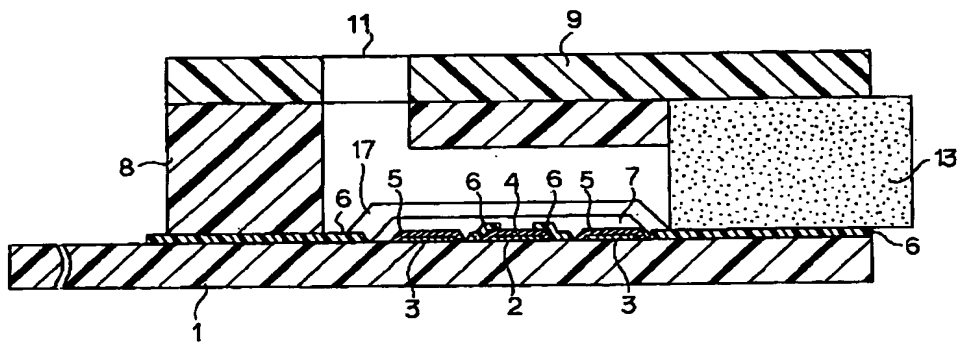
【図1】



【図3】



【図4】





フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーム (参考)
C 1 2 Q	1/60	G 0 1 N	33/483 F
G 0 1 N	27/447		33/92 B
	33/483		27/30 3 5 3 R
	33/92		27/26 3 3 1 Z
(72)発明者	池田 信	F ターム (参考)	2G045 AA13 BB29 DA69 FB01 FB05
	大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器		HA09 HA14
	産業株式会社内		4B033 NA02 NA23 NA26 NB02 NB12
(72)発明者	南海 史朗		NB25 NB63 NB65 NB68 NB69
	大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器		NC04 ND05 ND12 ND16 NE02
	産業株式会社内		4B063 QA01 QA18 QQ02 QQ76 QR03
			QR12 QR50 QR85 QS13 QS28
			QS39 QX05